

水飞蓟宾口服微乳制备及性质评价

江 来¹, 刘 欢², 王春龙^{2*}, 乔建军¹

(1. 天津大学化工学院, 天津 300072; 2. 天津药物研究院, 天津 300193)

摘要: 目的 制备稳定的水飞蓟宾口服微乳。方法 采用测定表面张力、绘制拟三元相图和正交设计相结合的方法进行处方筛选及工艺优化。结果 鉴别了微乳类型, 用光子相关光度法测定了微乳的平均粒径, 并且用超速离心法测定了药物在微乳中的相分布。经过对微乳进行离心及影响因素实验, 结果表明该微乳在室温下3个月内能维持均一稳定, 并且受高温光照影响较小。结论 该处方制备的水飞蓟宾口服微乳外观及稳定性良好, 为进一步研究奠定了基础。

关键词: 水飞蓟宾; 微乳; 稳定性

中图分类号: R 286.1

文献标识码: B

文章编号: 0253-2670(2008)01-0051-04

Preparation and capability evaluation of oral microemulsion silybin

JIANGLai¹, LIU Huan², WANG Chun-long², QIAO Jian-jun¹

(1. School of Chemical Engineering and Technology of Tianjin University, Tianjin 300072, China;

2. Tianjin Institute of Pharmaceutical Research, Tianjin 300193, China)

Abstract: **Objective** To prepare stable silybin oral microemulsion. **Methods** The formulation of the silybin oral microemulsion was optimized by the combination of surface tension measure, pseudo-ternary phase diagram drawing and orthogonal design. **Results** Microemulsion type was identified. Average particle diameter was measured. Distribution of silybin in microemulsion was measured by ultracentrifugation. The centrifugalization and influencing factors experiment of microemulsion were carried out, which could keep homogeneous and stable for three months on the storage condition of room temperature. Meanwhile, the influence of high-temperature and illumination was a little. **Conclusion** Stable oral microemulsion silybin can be prepared in this formulation, with fine-looking and desirable stability which is better for the further studies.

Key words: silybin; microemulsion; stability

水飞蓟宾是从水飞蓟果实中提取的有效成分。由于水飞蓟宾不溶于水和脂, 导致其现有片剂、胶囊和滴丸等口服剂型有较大的首关效应, 体内的半衰期短, 生物利用度低。微乳与普通剂型相比具有能包裹难溶药物, 提高药物稳定性的优点, 在靶向给药和缓控释给药方面有着广阔的应用前景。因此本实验通过高压乳匀法制备水飞蓟宾口服微乳, 研究其工艺影响因素, 并进行了稳定性考察。

1 仪器和材料

78HW—1型恒温加热磁力搅拌器(杭州仪表电机有限公司), D—79282组织捣碎剪切仪(德国Fluko), M—110L高压微射流纳米均质机(美国MFIC), TGL—16GB小型通用离心机(上海安亭科学仪器厂), J—25型高效冷冻离心机(美国Beckman), SHA—C数显水浴恒温振荡器(江苏省

金坛市宏华仪器厂), BI—9000AT型光子相关光谱仪(美国Brookhaven), UV—2550型紫外可见分光光度计(日本岛津), LC—10AT高效液相色谱仪(日本岛津), ANASTAR工作站。

水飞蓟宾原料药由盘锦格林恩生物资源开发有限公司提供, 质量分数为95%; 各种植物油均为药用级, 由浙江龙游聚兴粮油医药化工有限公司提供; 油酸(天津大学科威公司, 分析纯), 聚山梨酯80(上海大众制药厂, 药用级), PEG400(天津天成制药有限公司, 药用级), 各种短链醇均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 处方的选择

2.1.1 油相的选择: 聚山梨酯80作为常用的乳化剂具有乳化能力强、副作用小等优点, 并且是亲水性表面活性剂, 符合本实验将制备的O/W型口服微

* 收稿日期: 2007-05-30

作者简介: 江 来(1981—), 男, 天津大学制药工程专业硕士研究生。E-mail: tjtdjianglai@gmail.com

* 通讯作者 王春龙 Tel: (022) 23003212 E-mail: ddswwcl@vip.sina.com

乳,故选用聚山梨酯80为乳化剂,用简便的滴体积法^[1]测定各质量浓度聚山梨酯80溶液在各种备选植物油中的表面张力以确定油相,结果见图1。乳化剂的主要作用是减小油水界面层的张力,由图1可以看出,聚山梨酯80在大豆油中表面张力最小,所以确定大豆油为油相。

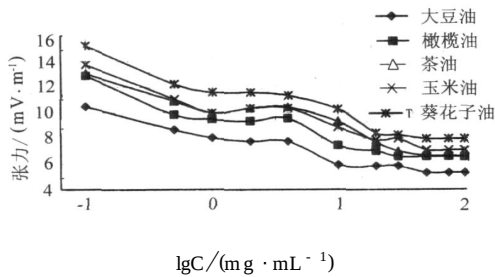


图1 表面张力曲线

Fig.1 Surface tension curve

2.1.2 助乳化剂种类的选择:常用助乳化剂包括乙醇、正丙醇、异丙醇、丙二醇、丙三醇等中低碳链醇,由于处方成分增加,滴体积法测表面张力的精确度有限,采用比较直观的拟三元相图法,通过比较形成的微乳区大小来考察助乳化能力。配制10%醇水溶液作为水相,聚山梨酯80与大豆油分别按质量比9:1、8:2、7:3、6:4、5:5、4:6、3:7、2:8、1:9混合,用微量移液器吸取水相分别滴定该混合物,每滴一滴涡旋2 min,超声除气泡后观察混合物是否仍澄清,记下浑浊时各组分的质量比,绘制相图,得出最大的微乳区,结果见图2。可以看出,丙三醇形成的微乳区域面积最大,因此选用丙三醇作助乳化剂。PEG 400对水飞蓟宾有显著增溶作用^[2],试验中也证实水飞蓟宾在PEG400中的溶解度达到225 mg/mL (25℃),故选用PEG 400作为药物的潜溶剂,每100 mL含药量为200 mg的微乳中,PEG 400用量为1.0 mL。

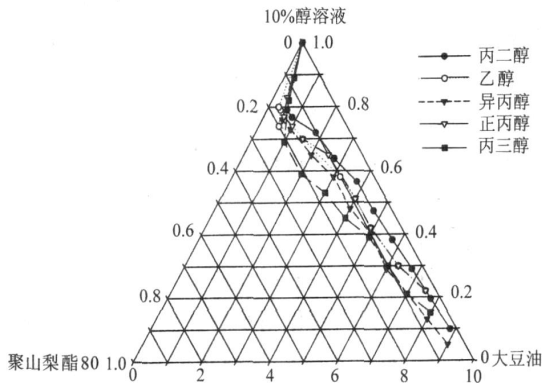


图2 助乳化剂的三元相图

Fig.2 Pseudo-ternary phase diagram of cosurfactant

2.1.3 正交试验设计确定处方:在文献调研、单因素考察的基础上确定主要考察因素为油相比例、乳化剂比例、助乳化剂比例。微量的油酸对界面膜的稳定能起到显著效果^[3],因此加入油酸作为稳定剂,一并列入考察范围,因素水平见表1,各因素按L₉(3⁴)正交设计进行试验,见表2。评价指标由两部分组成:微乳的稳定性参数K^[4]和微乳离心后外观,包括是否有油滴浮面、是否分层、是否有沉淀。两项指标权重相等,综合评分。

表1 处方筛选的因素水平

Table 1 Factors and levels of formulation selection

水平	因素			
	A 大豆油/%	B 聚山梨酯80/%	C 丙三醇/%	D 油酸/%
1	10	4	5	0.05
2	20	6	7	0.10
3	30	8	9	0.15

表2 L₉(3⁴)正交设计和结果

Table 2 Design and result of L₉(3⁴) orthogonal test

试验号	A	B	C	D	结果
1	1	1	1	1	85
2	1	2	2	2	90
3	1	3	3	3	88
4	2	1	2	3	72
5	2	2	3	1	80
6	2	3	1	2	85
7	3	1	3	2	70
8	3	2	1	3	80
9	3	3	2	1	75
k ₁	87.67	75.67	83.33	80.00	
k ₂	79.00	83.33	79.00	81.67	
k ₃	75.00	82.67	79.33	80.00	
R	12.67	7.67	4.33	1.67	

可知各因素对乳剂影响的大小顺序为A>B>C>D,即大豆油>聚山梨酯80>丙三醇>油酸。最优水平的组合为A₁B₂C₁D₂,即10%大豆油,6%聚山梨酯80,5%丙三醇,0.1%油酸。

2.1.4 正交试验设计确定工艺条件:微乳质量除了与处方有关外,还很大程度上受工艺条件的影响,经过预试得到的可能影响较大的因素和水平,见表3。用稳定性参数K₁评价,见表4。可以看出,工艺因素的影响顺序为均质次数>搅拌温度>剪切时间,最优水平组合为均质3次,70℃搅拌,剪切30 min。

表3 工艺条件的因素水平

Table 3 Factors and levels of process condition

水平	E 搅拌温度/℃	F 剪切时间/min	G 均质次数/次
1	60	20	1
2	70	30	3

表4 $L_4(2^3)$ 正交试验设计和结果

Table 4 Design and result of $L_4(2^3)$ orthogonal test

试验号	E	F	G	$K_e/\%$
1	1	1	1	7.0
2	1	2	2	3.0
3	2	1	2	1.5
4	2	2	1	4.0
K_1	5.000	4.250	5.500	
K_2	2.750	3.500	2.250	
R	2.250	0.750	3.250	

2.2 微乳的制备: 药物溶于PEG 400, 然后与已添加油酸的大豆油混匀作为油相, 70℃ 恒温搅拌; 聚山梨酯80 和丙三醇溶于处方量的水, 70℃ 恒温搅拌; 将油相缓慢滴加入水相中, 然后依次经过组织捣碎机剪切 30 min, 微射流均质机均质 3 次得到成乳。

2.3 水飞蓟宾的HPLC 法测定

2.3.1 色谱条件^[5]: 色谱柱为岛津 Shim-pack VP ODS (150 mm × 4.6 mm, 5 μm); 流动相: 甲醇-水-冰醋酸(42:58:5); 检测波长: 288 nm; 体积流量: 1.0 mL/min; 柱温: 35℃; 进样量: 20 μL。

2.3.2 专属性考察: 分别取空白微乳和 2 mg/mL 含药微乳 0.1 mL 置 10 mL 量瓶中, 用甲醇溶解并加至刻度, 摇匀, 进样, 得色谱图, 见图3。可见药物峰形好, 辅料不影响测定, 分离度较好。

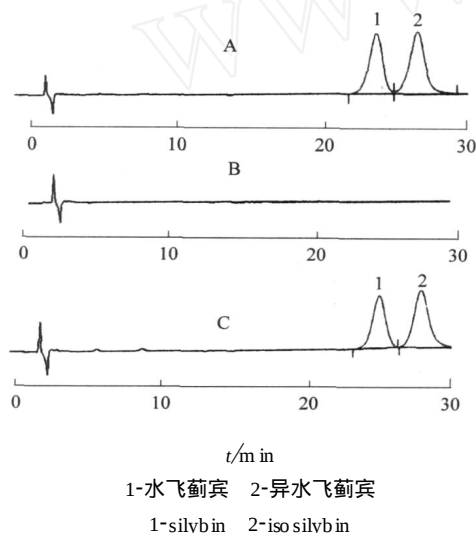


图3 原料药(A)、空白微乳(B)和含药微乳(C)的HPLC 图谱

Fig. 3 HPLC Chromatograms of silybin (A), blank microemulsion (B), and silybin microemulsion (C)

2.4 性质测定

2.4.1 微乳类型鉴别: 采用染色法鉴别微乳类型。利用油溶性染料苏丹红和水溶性染料亚甲蓝在微乳中红色或蓝色的扩散快慢来判断微乳的类型, 同时

向微乳中滴加两种染料各 1 滴, 若红色扩散快速于蓝色则为W/O 型微乳; 反之则为O/W 型。结果显示该微乳为O/W 型。

2.4.2 粒径测定: 采用光子相关光度法(CPS)分别测定 3 批样品, 得到平均粒径为 31~33 nm。见图4。

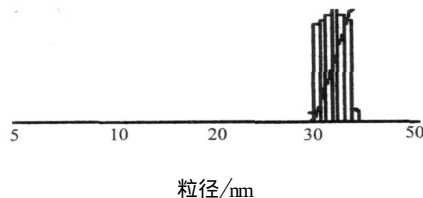


图4 光子相关光度法所测的粒径

Fig. 4 Particle diameter by CPS

2.4.3 相分布实验: 用超速离心法分离微乳的各相, 用能使油和水共溶的混合溶媒溶解微乳成澄清溶液, HPLC 法测定各相中药物的质量浓度, 计算药物在油、水相和O/W 界面层的分配比例。

精取水飞蓟宾微乳 1 mL 用甲醇稀释至 100 mL, 以同法制备的无药微乳同样倍数稀释后作空白, HPLC 法测定, 代入标准曲线方程计算得微乳中水飞蓟宾的质量浓度为 1.962 mg/mL。

取约 20 mL 微乳装入 25 mL 塑料管, 以 23 000 r/min 超速离心 120 min, 4℃。弃去上层稠乳, 取下层水层 4 mL, 8 000 r/min 继续离心 60 min, 再取该离心管中的下层澄清液, 过 0.22 μm 滤膜, 取续滤液用甲醇稀释 100 倍, HPLC 法测定, 经计算得到原微乳水相中水飞蓟宾的质量浓度为 49.6 μg/mL。

4℃时, 以 23 000 r/min 超速离心 120 min。取尽上层黏稠乳液, 100℃ 水浴 4 h, 超声 2 h, 完全吸取表面透明油层, 用甲醇稀释 100 倍, HPLC 法测定, 经计算得到原微乳油相中水飞蓟宾的质量浓度为 264.2 μg/mL。

很难分离出微乳的O/W 界面层, 因而难以直接测定药物在界面层的质量浓度, 但可由分离前微乳中水飞蓟宾总量与油、水相水飞蓟宾量的差间接计算得到。

结果证实了该处方的O/W 口服微乳中水飞蓟宾大部分分布在O/W 界面层, 这与文献报道^[6]一致。

2.4.4 相转变温度的测定: 取新鲜制备的微乳约 30 mL, 置于小烧杯内, 放入恒温水浴中, 磁力搅拌。控制水浴温度, 使较均匀地升温(0.5℃/min)。将导电电极固定于敏感位置(铂黑片上端恰与微乳界面相平), 测定微乳在 25~90℃ 电导率的变化, 见图5。可见微乳自 65℃ 随温度上升, 电导率由升高转为下降, 此为初转变温度; 71℃ 时电导率重新开始上升,

此为相转变温度, 因此控制搅拌乳化温度在65~ 71 得到的微乳相对稳定。

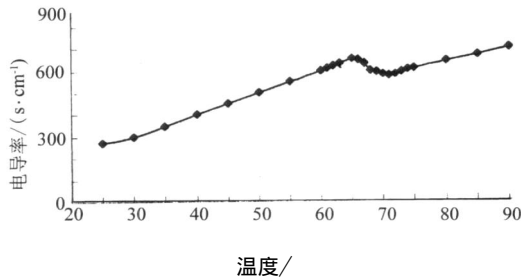


图5 微乳的电导率-温度曲线

Fig. 5 Conductivity-temperature curve of silybin microemulsion

2.5 稳定性考察

2.5.1 离心加速试验: 根据《中国药典》2005 年版一部附录 D 乳剂离心稳定性标准, 以 4 000 r/min 离心 15 min, 无分层现象, 无药物析出, 提示该微乳均一稳定。

2.5.2 高温和光照试验: 微乳充氮、密封, 分别于 40、60 , 4 500 lx 条件下放置 10 d, 分别于 0、5、10 d 考察微乳的外观、平均粒径、有效成分的质量浓度, 见表 5。可见该乳剂在室温下 3 个月内能维持均一稳定。60 的 10 d 留样的外观变化尤为明显, 有效成分的质量浓度下降量略高于其他条件, 并且有少量乳滴凝聚情况发生, 说明该微乳应低温或室温贮藏。但是从平均粒径变化来看, 3 种条件对粒径的影响都不大, 说明即使发生凝聚只是局部发生, 而微乳整体仍比较稳定。

3 讨论

计算稳定性参数 K_e 时采用离心加速比较微乳的分层速度, 以紫外分光光度法测定微乳离心前后

表5 高温和光照试验

Table 5 High temperature and illumination

条件	外观	平均粒径/	有效成分
		nm	相对量/%
3 个月室温 40	均一, 无沉淀	32	97.8
	0 d 均一, 无沉淀	31	98.3
	5 d 均一, 无沉淀	31	98.1
	10 d 均一, 无沉淀	32	97.5
60	0 d 均一, 无沉淀	31	98.3
	5 d 有少量乳滴挂壁	33	97.2
	10 d 有少量乳滴挂壁	35	96.0
4 500 lx 光照	0 d 均一, 无沉淀	31	98.3
	5 d 均一, 无沉淀	31	97.7
	10 d 均一, 无沉淀	33	97.0

的吸光度, 相差越小, 说明乳剂越稳定。该方法简便快捷, 是评价乳剂稳定性的重要指标。

乳化剂和助乳化剂的种类及配比对微乳质量起着重要作用, 本实验由简单方法入手, 逐步提高筛选精度, 先后通过测表面张力、绘制拟三元相图和正交设计进行处方筛选, 在达到实验目的的前提下尽量减少工作量。

水飞蓟宾难溶于水和油, 本实验将其制备为口服微乳。性质考察结果表明, 该工艺得到的微乳外观、稳定性良好, 符合要求, 为进一步研究提供参考。

参考文献

- [1] 朱步瑶, 赵国玺. 液体表(界)面张力[J]. 化学通报, 1981, (6): 341.
- [2] 王鸿辰. 水飞蓟素溶解性能的研究[J]. 药学通报, 1984, 19(12): 23-25.
- [3] Levy M Y, Schutze W, Fuhrer C, et al. Characterization of diazepam submicron emulsion interface: role of oleic acid[J]. J Microencapsul, 1994, 11(1): 79-92.
- [4] 韩继洪, 苏德森. 抗癌药物 FT-207 脂肪乳剂物理性质的研究[J]. 沈阳药学院学报, 1991, 8(1): 14-17.
- [5] 宋赞梅, 平其能, 吴正红. 水飞蓟宾纳米乳的制备及家兔体内药动学[J]. 中国药科大学学报, 2005, 36(5): 427-431.

大孔吸附树脂纯化达原滴丸处方提取液的工艺研究

廖茂梁¹, 张铁军¹, 高文远², 薛 艳^{1*}

(1. 天津药物研究院 中药现代研究部, 天津 300193; 2. 天津大学 药物科学与技术学院, 天津 300193)

摘要: 目的 研究大孔吸附树脂对达原滴丸提取液的吸附性能, 考察精制工艺。方法 以达原滴丸中黄芩苷质量分数和收率为主要考察指标, 考察了大孔吸附树脂 NKA-12、HPD-60Q、HPD-50Q、HPD-30Q、HPD-10Q、D101、AB-8、NKA-9 对达原滴丸中黄芩苷的吸附和解吸特性以及纯化能力。结果 达原滴丸提取液上 HPD-300 树脂, 上样液黄芩苷质量浓度为 2.65 mg/mL, 体积流量为 3 BV/h, 50% 乙醇解吸 5 BV 时, 水洗 4 BV, 解吸效果较好。结论 HPD-300 树脂可用作达原滴丸的精制。

* 收稿日期: 2007-04-23

基金项目: 天津市科技攻关培育项目 (033101911)

作者简介: 廖茂梁(1981—), 男, 江西南康人, 主要从事中药研发。Tel: (022) 23003935 E-mail: lianmaoliang@163.com